

д.фарм.н. КАРПЮК У.В.,
uliana.karpiuk@gmail.com

Україна, м. Київ, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
к.фарм.н. ЧОЛАК І.С.,

Україна, м. Київ, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
к.мед.н. СМЕЛЬЯНОВА О.І.

oxanabil3@gmail.com

Україна, м. Київ, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
д.фарм.н. КИСЛИЧЕНКО В.С.

Україна, м. Харків, Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕЛАНІНУ ШКІРКИ НАСІННЯ ГІРКОКАШТАНА ЗВИЧАЙНОГО

Summary: the aim of our study was to isolate melanin from the skin of horse chestnut seeds (*Aesculus hippocastanum* L.), followed by its identification and quantitative determination. The study of the obtained melanin was carried out by methods of qualitative reactions. The aqueous solutions of melanin gave a positive reaction to the reagents used to identify melanins: when added to the solution of iron (III) chloride, a precipitate was formed; silver nitrate was restored to metallic silver; when adding a solution of potassium permanganate and hydrogen peroxide solution there was a discoloration of aqueous solution. The nature of melanin was confirmed by IR- and UV-spectroscopy. The quantitative determination has been done by gravimetry method. Melanin has been isolated and its quantitative content has been determined ($1.92 \pm 0.09\%$).

Key words: *Aesculus hippocastanum* L., melanin, skin seeds

Вступ. На сьогоднішній день значне місце в сучасній медицині займають природні сполуки рослинного походження і лікарські засоби на їх основі. Перспективність фітопрепаратів обумовлена біологічно активними речовинами, які забезпечують високу біодоступність препаратів, мають мінімум побічних ефектів та фармакологічну адекватність до людського організму. До таких речовин відноситься меланін.

Меланін – природний пігмент, який накопичується у багатьох рослинах – винограді, соняшнику, гречці, гіркокаштані та ін. Він має високу біологічну активність: антиоксидантну, антимуtagenну, антистресорну, цитостатичну, ентеросорбуючу, регулює активність травних ферментів та перистальтику кишечника, захищає організм людини від УФ- та рентгенівського випромінювання, а також підвищує регенеративну здатність нервових волокон при ураженнях ЦНС за рахунок відновлення кровопостачання пошкоджених тканин [1,3,6,7].

Тому **метою** нашого дослідження було виділення меланіну із шкірки насіння гіркокаштану звичайного із подальшою його ідентифікацією та кількісним визначенням.

Результати дослідження. Насіння каштану звичайного збирали в Київській та Харківській областях в період повного дозрівання, висушували, відокремлювали шкірку та подрібнювали на порошок. Сировина зібрана у вересні-жовтні 2017–2018 рр. Кількість серій – 5. □

До 10,0 г подрібненої сировини додавали 20 мл води очищеної та 20 мл суспензії дріжджів. Отриману суміш залишали у термостаті на 10 діб при температурі 37-40 °С. До ферментованої маси додавали таку ж кількість води очищеної, перемішували, фільтрували та проводили повторну екстракцію. Витяжки об'єднували, упарювали під вакуумом до мінімального об'єму, фільтрували та додавали 4-кратну кількість 96% етанолу. Утворювався осад темного кольору. Осад відфільтровували, вдруге переосажували спиртом, знову фільтрували та висушували у вакуумі 10-2 мм рт. ст. при 100 °С, зважували.

Вміст меланіну (X, %) у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховували за формулою:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 10000}{m \cdot (100 - W)},$$

де m_1 – маса фільтра, г;

m_2 – маса фільтра з осадом, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата у масі при висушуванні, % [2,4,5].

Кількісний вміст меланіну в шкірці насіння гіркокаштана в перерахунку на абсолютноно суху сировину становив $1,92 \pm 0,09\%$.

Подальше дослідження одержаного меланіну проводили методами якісних реакцій [4]. Водні розчини меланіну давали позитивні реакції із реактивами, які використовуються для ідентифікації меланінів: при додаванні розчину заліза (III) хлорида утворювався осад; срібла нітрат відновлювався до металічного срібла; при додаванні розчину калію перманганату та розчину водню пероксиду спостерігалось знебарвлення водного розчину.

Природу меланіну підтверджували за допомогою ІЧ- та УФ-спектроскопії. Елементний аналіз виконували на приладі Euro Vector EA-3000. В основі дії приладу покладений принцип спалювання в атмосфері кисню, з наступним хроматографічним розділенням продуктів у вигляді газів (CO_2 , SO_2 , H_2O , N), які утворюються в процесі спалювання. Детектор – катарометр (ДТП) [4].

В УФ-спектрі досліджуваної речовини максимум спостерігався при 320 нм. Розчином порівняння була вода. ІЧ-спектр речовини (рис. 1) мав смуги поглинання в області 3430 cm^{-1} , що відповідає валентним коливанням NH- та OH-груп; смуги поглинання в області $2920\text{-}2850 \text{ cm}^{-1}$ зумовлено коливанням CH_2 -, CH_3 -груп; в області $1730\text{-}1635 \text{ cm}^{-1}$ – коливанням спряжених подвійних зв'язків $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$ та $\text{C}=\text{O}$ у складі вторинних амідів; в області 1420 cm^{-1} – наявністю $-\text{NH}_2$ та $-\text{CONH}_2$ груп, деформаційними коливаннями NH-груп вторинних амідів, CH_2 -груп у складі аліфатичних радикалів, $\text{C}=\text{O}$; в області 1080 cm^{-1} – наявністю $\text{C}=\text{O}$ вуглеводних та спиртових груп.

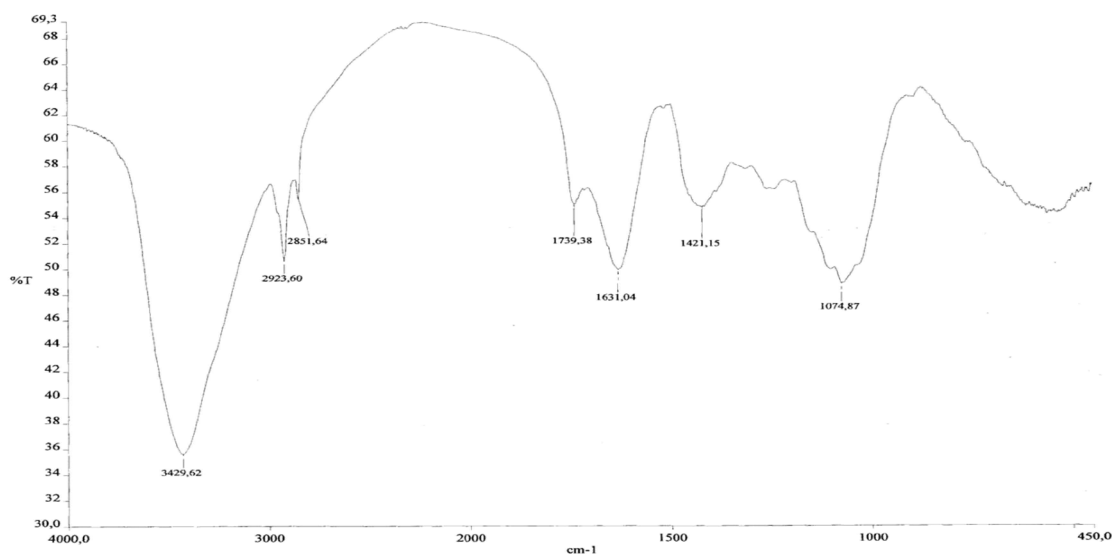


Рис. 1 ІЧ-спектр меланіну

На підставі результатів якісних реакцій, даних ІЧ- та УФ-спектроскопії отримана речовина була віднесена до меланіну.

Висновки. Проведено дослідження меланіну шкірки насіння гіркокаштана. Виділено меланін та встановлено його кількісний вміст ($1,92 \pm 0,09\%$). Отримані результати обумовлюють доцільність подальшого фармакологічного дослідження шкірки насіння гіркокаштана з метою комплексного використання даної сировини.

Список літератури

1. Евса Т. В. (2004). Противовоспалительная и антиоксидантная активность растительного меланина. Материалы международной Пушкинской конференции: Биология – наука XXI века. Пушкино, 21.
2. Журавель, І. О. (2010). Дослідження меланінів з навколоплідників гречки посівної. *Фармацевтичний журнал*, 6, 93–96.

3. Панасенко, Т. О., Непорада К. С. (2012). Застосування меланіну як стреспротектора півкуль головного мозку в залежності від стресостійкості тварин. Таврический медико-биологический вестник. Т.15, (3), Ч.1 (59), 250-253.
4. Прутенская, Е. А., Сульман Э. М. (2014). Перспективные методы получения меланинов различного происхождения. Биотехнология: реальность и перспективы: материалы международной научно-практической конференции (Саратов), 68–70.
5. Прутенская, Е. А., Васильев А. С., Лебедева Е. Ю., Сидоров А. И. (2017). Технологии получения меланинов Вестник Тверского государственного технического университета, 1 (31), 129-132.
6. Petrosyan, T. R. (2012). Neuroprotective action of bacterial melanin in rats after corticospinal tract lesions. Pathophysiology. 71-80.
7. Solano, F. (2014). Melanins: Skin Pigments and Much More-Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes. Department of Biochemistry and Molecular Biology B & Immunology.